

Научная статья
УДК 636.5.082.474

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КОРРИГИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ГЛУТАТИОНА НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ У ЦЫПЛЯТ И ПЕРЕПЕЛЯТ СУТОЧНОГО ВОЗРАСТА

Валерия Александровна Попова*✉, Татьяна Олеговна Азарнова**,
Инесса Сергеевна Луговая*, Николь Григорьевна Азарнова**

**Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов, Москва, Россия, valer-ka99@mail.ru✉*

***Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА имени К. И. Скрябина, Москва, Россия*

Аннотация. Стресс является ключевым фактором, определяющим снижение жизнеспособности, продуктивности и воспроизводительных качеств сельскохозяйственной птицы [1]. На молекулярном уровне это проявляется в виде интенсификации свободнорадикальных реакций, и, как следствие, процессов перекисного окисления липидов, которые наиболее опасны в период инкубации, когда эмбрион еще не имеет сформированных антиоксидантных механизмов защиты. Для предупреждения заявленных негативных явлений коллектив авторов статьи рекомендует трансвариальное прединкубационное использование антиоксиданта глутатиона, в ранее выявленной оптимальной концентрации [2, 3]. В ходе исследований было установлено, что применение изучаемого трипептида снижает интенсивность липопероксидации на всех стадиях процесса при повышении антиокислительной активности сыворотки крови, как у цыплят, так и у перепелат на 9,7 % ($p < 0,05$) и на 28,5 %, соответственно. Реализация антиоксидантных свойств глутатиона определила условия для повышения жизнеспособности сельскохозяйственной птицы обоих видов, за счет снижения большинства изученных категорий отходов инкубации, что обусловило увеличение вывода особей и выводимости яиц на 3,97 %, на 3,64 % (цыплята) и на 7,60 %, на 4,35 % (перепелата), соответственно по сравнению с контролем.

Ключевые слова: глутатион, эмбриогенез, перепела, цыплята, оксидативный стресс, свободные радикалы

В настоящее время птицеводство успешно конкурирует с мясным скотоводством в отношении обеспечения населения продуктами питания [4]. Это происходит за счет более короткого цикла воспроизводства и высокой окупаемости вложенных инвестиций [4]. Однако интенсификация птицеводческой отрасли, которая определяет все более жесткие условия содержания для получения большего количества продукции при меньшем количестве затрат, влияет на физиологическое состояние птицы [5]. Это приводит к напряжению всех систем ее организма и, в отсутствии дополнительного поддержания антиоксидантами в онтогенезе, ослабляет его, обуславливая повышение восприимчивости особи к действию факторов стресса [1, 6].

Стресс сопровождает все технологические этапы производства, однако наиболее важным и часто сопряженным с действиями негативных факторов

является период инкубации, когда организм птицы еще не сформирован, а антиоксидантные системы еще не завершили свое становление [7, 8]. Известно, что, с самого начала своего развития, эмбрион в условиях производственного цикла находится под действием большого количества факторов стресса одновременно, совокупное действие которых никак не может являться тренировочным, а потому определяет негативные изменения в клетках, органах и тканях, сопряженные с избыточным накоплением активных форм кислорода и прогрессией липопероксидации [8, 9]. Причиной этого может быть недостаточность антиоксидантов в яйце, а также их быстрое истощение в случае длительного воздействия факторов стресса или присутствия широкого спектра их разнообразия [8]. Важно отметить, что периоды гипоксии, периодически сопровождающие эмбриональный период птицы, также

сопряжены с прогрессией оксидативного стресса, это связано с тем, что кислород в меньшей концентрации, но сохраняет свое присутствие [10].

В зависимости от силы воздействия стрессоров существует минимум три адаптационные реакции: реакция тренировки — возникает в ответ на систематические слабые воздействия, что приводит к устойчивости организма к раздражителям; реакция активации — отклик на воздействия средней силы, характеризующийся подъемом активности защитных систем, повышая выносливость организма; реакция на сильные чрезвычайные воздействия — это стресс [11]. При долговременном или очень сильном влиянии стрессоров, адаптационные возможности организма снижаются, особь функционирует на пределе своих возможностей, происходит некомпенсируемая интенсификация процессов липопероксидации, наступает стадия истощения [12]. Избыток продуктов свободнорадикального окисления, которые обладают повышенной реакционной способностью и являются причиной модификации структур липидов, белков и нуклеиновых кислот, приводит к инициации и прогрессии патологических процессов в организме, определяя нарушение метаболизма, а вместе с тем снижение роста, развития, естественной резистентности, жизнеспособности и воспроизводительных возможностей особи [1].

Особенности обменных и физиологических процессов в организме птицы зависят от вида, стадии онтогенеза, возраста, направления, уровня продуктивности и индивидуальных особенностей [13]. При этом современные генотипы сельскохозяйственной птицы очень чувствительны к стрессам различной этиологии и генеза [14]. Указанное актуализирует изучение метаболических процессов у популярных видов сельскохозяйственной птицы. Это позволяет найти наиболее действенные способы коррекции оксидативного стресса и оптимизации метаболических процессов, которые позволят повысить результативность промышленной инкубации, а вместе с тем увеличат вывод молодняка и выводимость яиц, качество особи. Для снижения степени негативных проявлений действия стрессоров и недопущения чрезмерной интенсификации свободнорадикальных процессов в обсуждаемый период многие ученые предлагают применение антиоксидантов перед инкубацией, использование которых экономично, выгодно и безопасно [8, 15]. Именно к таковым можно отнести глутатион — трипептид, состоящий из остатков аминокислот: глутамата, цистеина и глицина, который синтези-

руется во многих растительных, микробных и всех животных клетках [16]. Его основная функция — инактивация свободнорадикальных процессов. Он непосредственно ингибирует различные окислители, такие как супероксидный анион, гидроксильный радикал, оксид азота и углеродные радикалы, а также является кофактором различных антиоксидантных ферментов, включая глутатионпероксидазу и глутатион-S-трансферазу [17]. Также обсуждаемый антиоксидант участвует в детоксикации поглощенных тяжелых металлов и продуктов, которые выводятся из метаболизма [16]. Помимо этого глутатион играет важную роль в биосинтезе, фолдинге белка и стабилизации его структуры, транспорте некоторых аминокислот в клетку [18].

Нужно еще раз отметить, что обсуждаемый трипептид является наиболее распространенным в эукариотических клетках, но при стрессах его пул быстро истощается [19]. Указанное актуализирует его использование перед инкубацией для исследования его влияния на интенсивность липопероксидации у различных видов сельскохозяйственной птицы.

Цель работы: сравнение действий оптимальной концентрации глутатиона при трансовариальном однократном предынкубационном введении на интенсивность липопероксидации у цыплят и перепелят суточного возраста.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Эксперимент проводили в условиях СГЦ «Загорское ЭПХ» — филиал ФНЦ ВНИТИП РАН и Шепиловской птицефабрики, а также на кафедре химии имени профессоров С. И. Афонского, А. Г. Малахова ФГБОУ ВО МГАВМиБ — МВА имени К. И. Скрябина. Для осуществления опыта в партии были взяты: яйца кур кросса «Росс 308» (по 252 штуки в каждую) и яйца перепелов японской породы (по 250 штук в каждую), при соблюдении принципа аналогов, а именно: сроков снесения и хранения, массы. Опытные группы орошали оптимальным раствором глутатиона, концентрация которого была выявлена в серии предшествующих экспериментов — 2,5 % [2, 3]. Контрольные партии яиц обработке не подвергали.

Для исследования маркеров липопероксидации использовали сыворотку крови цыплят и перепелят суточного возраста опытных и контрольных групп. Заявленные показатели определяли колориметрическими методами [20]; изучение АОА осуществляли на основании регистрации торможе-

ния окисления О-дианизидина дихлоргидрата радикалом гидроксила, который образуется в системе Фентона сыворотки крови [20]. Исследование показателей биоконтроля инкубации, а также расчет вывода цыплят и выводимости яиц проводили, основываясь на рекомендациях Бессарабова Б. Ф. (2015) [21].

Полученный в ходе научно-исследовательской работы цифровой материал подвергали статистической обработке с помощью критерия Стьюдента с использованием программы Microsoft Excel [22]. Результат считали достоверными при $p \leq 0,05$ (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Предынкубационная обработка яиц оптимальной концентрацией глутатиона определила ослабление процессов окислительного стресса, что выразилось в снижении показателей ПОЛ у всех изучаемых видов птиц опытных групп (табл. 1): липиды, содержащие изолированные двойные связи (ИДС) снизились на 47,8 % у цыплят и на

38,4 % у перепелят, диеновые конъюгаты (ДК) на 32,6 и 19,2 %; триеновые конъюгаты (ТК) на 44,1 и 12,7 % ($p < 0,05$); оксодиеновые конъюгаты (ОДК) на 57,6 и 14,9 % ($p < 0,05$); основания Шиффа (ОШ) на 57,9 % ($p < 0,01$) и 13,6 %. Указанное стало следствием повышения антиокислительной активности (АОА) на 9,7 % ($p < 0,05$) у цыплят и на 28,5 % у перепелят.

Анализируя данные, представленные в таблице 1, следует, что организм всех изученных нами видов сельскохозяйственных птиц отзывчив к действию глутатиона, однако в разной степени. Так, снижение первичных продуктов липопероксидации было зафиксировано и у цыплят, и у перепелят примерно с одинаковой разницей относительно контроля. При оценке промежуточных и конечных продуктов окислительного стресса установлено, что более восприимчивы к действию глутатиона были цыплята, при этом организм перепелят также противодействовал процессам липопероксидации по сравнению с контрольной группой. Однако антиокислительная активность относительно контроля была выше у перепелят.

Таблица 1

Показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защитной системы (АОЗС), ($n = 5$)

Группы	Первичные продукты ПОЛ		Вторичные продукты ПОЛ		Конечные продукты ПОЛ	АОА, %
	ИДС, отн.ед/мл	ДК, отн.ед/мл	ТК, отн.ед/мл	ОДК, отн.ед/мл	ОШ, отн.ед/мл	
Цыплята						
Контрольная	9,2 ± 0,15	4,3 ± 0,11	3,4 ± 0,15	3,3 ± 0,19	1,4 ± 0,14	55,6 ± 1,57
Опытная 2,5 %	4,8 ± 0,08	2,9 ± 0,10	1,9 ± 0,08	1,4 ± 0,15	0,59 ± 0,02**	61,0 ± 1,30*
Перепелята						
Контрольная	6,34 ± 0,12	2,6 ± 0,11	1,73 ± 0,07	1,68 ± 0,06	0,59 ± 0,02	47,0 ± 1,30
Опытная 2,5 %	3,9 ± 0,10	2,1 ± 0,09*	1,51 ± 0,03*	1,43 ± 0,03*	0,51 ± 0,02	60,4 ± 0,93

Здесь и далее

* $p < 0,05$

** $p < 0,01$

*** $p < 0,001$

Зафиксированная интенсивность липопероксидации, очевидно, являлась у представителей опытных групп более позитивной, так как и у перепелят, и у цыплят было установлено увеличение эм-

бриональной жизнеспособности, что выразилось в увеличении вывода цыплят на 3,97 %, а выводимости яиц на 3,64 %, перепелят на 7,60 и 4,35 %, соответственно. Указанное было обусловлено сни-

жением большинства изученных отходов инкубации (табл. 2). Так количество «неоплодотворенных», за счет «ложнонеоплодотворенных», у цыплят уменьшилось на 8,8 % и у перепелов на 35,5 %, «кровавых колец» в 1,9 раз и в 1,5 раз, «замерших» на 17,4 % и на 17,8 %, «слабых» на 9,2 % и на 40 %, соответственно по сравнению с контролем.

По данным Бессарабова Б. Ф. (2015), 3—6 и 17—20 сутки являются наиболее опасными критическими периодами инкубации, так как в это время наблюдаются особенно высокие пики эмбриональной смертности, обусловленные резкими, масштабными физиологическими изменениями у эмбриона и совокупностью действия негативных факторов, сопряженных с несовершенством промышленной инкубации, являющихся высокоэнергетическими для организма, а потому не всегда обеспеченными нужным количеством макроэр-

гов на покрытие [8, 21]. Все это является фактором стресса экстремальной силы, инициирующий аномально высокую прогрессию свободнорадикальных процессов, как следствие липопероксидации, приводящих эмбрионов к ослаблению или к гибели. Однако, как видно из таблиц 1 и 2, благодаря антиоксидантным свойствам глутатиона, эмбрионы цыплят и перепелят опытных групп были более стрессоустойчивы в эти критические периоды, что выразилось в снижении большинства категорий отходов инкубации в соответствующие периоды и увеличении жизнеспособности полученного молодняка.

Исходя из полученных результатов следует, что глутатион оказал стимулирующее воздействие на эмбриогенез обсуждаемых видов сельскохозяйственной птицы, при этом в большей степени это выразилось у перепелов.

Таблица 2

Показатели биоконтроля инкубации цыплят и перепелят

Группа	Неоплод. в т. ч. ложный	Крова- ные кольца	Замер- шие	задох- лики	Слабые	Вывод молод- няка	±Δ, %	Выводи- мость яиц	±Δ, %
цыплята, % (n = 252)									
Кон- трольная	9,13± 1,81	0,79± 0,56	9,13 ± 1,81	4,37 ± 1,29	4,37 ± 1,29	72,22± 2,82	—	79,48± 2,54	—
Опытная 2,5 %	8,33± 1,74	0,40± 0,40	7,54 ± 1,66	3,57 ± 1,17	3,97 ± 1,23	76,19 ± 2,68	+3,97	83,12± 2,36	+3,64
перепелята, % (n = 250)									
Кон- троль	12,4 ± 2,08	2,40± 0,97	7,60± 1,68	2,00± 0,89	±4,00 ± 1,24	71,60± 2,85	—	81,74± 2,44	—
Опытная 2,5 %	8,00 ± 1,72	1,60± 0,79	6,00± 1,50	2,80± 1,04	2,40± 0,97	79,20± 2,57	+7,60	86,09± 2,19	+4,35

±Δ — разница между контрольной и опытной группой

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Трансовариальное предынкубационное использование глутатиона в оптимальной концентрации способствовало снижению процессов липопероксидации в организме цыплят и перепелят. Указанное стало следствием снижения показателей перекисного окисления липидов на всех его стадиях, на фоне повышения антиокислительной активности. На начальном, промежуточном и конечных этапах оксидативного стресса более выраженный эффект был зафиксирован у цыплят, при

меньшей разнице по совокупной антиоксидантной защите относительно перепелят. Указанные позитивные явления определили условия для снижения большинства изученных категорий отходов инкубации, а вместе с тем увеличение вывода цыплят и перепелов, с преимуществом численных значений у вторых. Исходя из представленного, коллектив авторов рекомендует предынкубационное трансовариальное использование 2,5 % раствора глутатиона для стимуляции эмбриогенеза, как кур, так и перепелов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Сурай П.* Природные антиоксиданты в эмбриогенезе кур и защита от стрессов в постнатальном развитии (обзор) / П. Сурай, В. И. Фисинин // *Сельскохозяйственная биология*. — 2013. — Т. 48. — № 2. — С. 3—18. — EDN OJNVCH.
2. *Азарнова Т. О.* Эффективность реализации антиоксидантного и обменостимулирующего действия глутатиона в промышленном перепеловодстве / Т. О. Азарнова, В. А. Попова, М. С. Найденский, И. С. Луговая, В. А. Комар // *Ветеринарный фармакологический вестник*. — 2020. — № 3(12). — С. 70—80. — DOI 10.17238/issn2541—8203.2020.3.70
3. *Попова В. А.* Эффективность реализации некоторых механизмов адаптации при использовании глутатиона у цыплят-бройлеров / В. А. Попова, Т. О. Азарнова, И. С. Луговая, Е. А. Золотухина // *Балтийский морской форум: Материалы IX Международного Балтийского морского форума*. В 6-ти томах. XIX Международная научная конференция, Калининград, 04—09 октября 2021 года. Том 1. — Калининград: Калининградский государственный технический университет, 2022. — С. 220—226. — EDN MEDESU.
4. *Клетикова Л. В.* Метаболическая реакция организма птиц в ответ на применение современных биостимуляторов / Л. В. Клетикова, В. А. Пономарев, Н. Н. Якименко, А. А. Каминская // *Вестник Омского государственного аграрного университета*. — 2022. — № 2(46). — С. 107—114. — DOI 10.48136/2222—0364_2022_2_107
5. *Сидорова К. А.* Особенности морфофункционального состояния систем организма продуктивных птиц в условиях Северного Зуралья: монография / К. А. Сидорова, С. А. Веремеева, С. В. Козлова, Е. П. Краснолובה, Н. А. Череменина, А. С. Копылова, А. В. Балакшина. — Тюмень: ГАУ Северного Зуралья, 2022. — 178 с. — EDN HHYJJE.
6. *Индюхова Е. Н.* Моделирование паттерна адапционных реакций у кур-несушек при действии биологического стресс-фактора / Е. Н. Индюхова, М. В. Арисов, В. И. Максимов, Т. О. Азарнова // *Вестник Кыргызского национального аграрного университета им. К. И. Скрябина*. — 2022. — № 3(62). — С. 33—37. — EDN EWOMIF
7. *Азарнова Т. О.* Мембранопротекторные, обменостимулирующие и антиоксидантные свойства комплекса естественных метаболитов: серина, сукцината и кол-амина / Т. О. Азарнова, И. И. Кочиш, М. С. Найденский, С. Ю. Зайцев, И. С. Ярцева // *Прикладная аналитическая химия*. — 2012. — Т. 3, № 7. — С. 46—49. — EDN OYJDDV.
8. *Азарнова Т. О.* Научно-практические аспекты профилактики оксидативного стресса, как способа оптимизации условий инкубации и акселерации эмбрионов кур: дис. ... доктора биол. наук. / Т. О. Азарнова; МГАВМиБ — М., 2013. — 309 с. — EDN SUNBYD.
9. Ufer C, Wang CC. The Roles of Glutathione Peroxidases during Embryo Development. *Front Mol Neurosci*. 2011 Jul 28;4:12. DOI: 10.3389/fnmol.2011.00012
10. *Азарнова Т. О.* Особенности динамики липопероксидации у эмбрионов кур в условиях промышленной инкубации при трансвариальном использовании феруловой кислоты / Т. О. Азарнова, А. М. Резвых, И. И. Кочиш, И. С. Луговая // *Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Биология*. — 2024. — Т. 17, № 1. — С. 82—94. — EDN: MMPZTF
11. *Суханова Г. А.* Биохимия клетки / Г. А. Суханова, В. Ю. Серебров. — Томск: Чародей, 2000. — 184 с. — EDN VJEUBT.
12. *Порядин Г. В.* Стресс и патология: методическое пособие / Г. В. Порядин — М.: — Москва: РГМУ, 2009. — 23 с.
13. *Кырылив Б. Я.* Биологические и метаболические особенности различных видов сельскохозяйственной птицы / Б. Я. Кырылив, И. Б. Ратич, А. В. Гунчак, Е. И. Федорович // *Научный вестник Львовского национального университета ветеринарной медицины и биотехнологий имени С. С. Гжицкого*. — 2015. — Т. 17, № 1—3(61). — С. 71—80. — EDN VLAAMF.
14. *Боголюбова Н. В.* Биохимический профиль организма кур разного направления продуктивности / Н. В. Боголюбова, Р. В. Некрасов, А. А. Зеленченкова, Рыков Р. А., Колесник Н. С., Волкова Н. А., Ветох А. Н. // *Ветеринария и кормление*. — 2022. — № 6. — С. 11—15. — DOI 10.30917/ATT-VK-1814—9588—2022—6—3
15. *Найденский М. С.* Экологически безопасные методы повышения вывода кондиционных цыплят / М. С. Найденский, В. В. Нестеров, Н. Ю. Лазарева // *Био. Ветеринарному специалисту*. — 2007. — № 10. — С. 23—24. — EDN VDJMIF.
16. *Толпыгина О. А.* Роль глутатиона в системе антиоксидантной защиты (обзор) / О. А. Толпыгина // *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. — 2012. — № 2—2(84). — С. 178—180. — EDN PCQJAR.
17. Wangsanut T, Pongpom M. The Role of the Glutathione System in Stress Adaptation, Morphogenesis and Virulence of Pathogenic Fungi. *Int J Mol Sci*. 2022 Sep 13;23(18):10645. DOI:10.3390/ijms231810645
18. *Баймухаметова Э. А.* Глутатион и глутатион-S-трансферазы: важнейшие компоненты системы антиоксидантной защиты растений / Э. А. Баймухаметова, Р. М. Таипова, Б. Р. Кулуев // *Биомика*. — 2016. — Т. 8, № 4. — С. 311—322. — EDN XRYLFI.
19. Gardiner C. S., Reed D. J. (1995). Synthesis of glutathione in the preimplantation mouse embryo. *Arch. Biochem. Biophys*. 318, 30—36 — doi: 10.1006/abbi.1995.1200
20. *Кондрахин И. П.* Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник / И. П. Кондрахин, А. В. Архипов, В. И. Левченко и др. — М.: КолосС, 2004. — 519 с. — EDN QKWKND.

21. Бессарабов Б. Ф. Инкубация яиц сельскохозяйственной птицы / Б. Ф. Бессарабов, А. А. Крыканов, А. Л. Киселев. — Санкт-Петербург: Лань, 2015. — 160 с. — EDN UPUGIF.

22. Кочиш И. И. Селекция в птицеводстве / И. И. Кочиш. — Москва: Издательство «Колос», 1992. — 271 с. — EDN SUEKMM.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

В. А. Попова — специалист отдела бактериологии, соискатель;

Т. О. Азарнова — доктор биологических наук, профессор кафедры химии имени проф. С. И. Афонского и А. Г. Малахова;

И. С. Луговая — кандидат биологических наук, начальник отдела «Аспирантура»;

Н. Г. Азарнова — студентка 3-го курса факультета биотехнологии и экологии.

Статья поступила в редакцию 20.03.2025.